

Method for treatment of sewage plant sludges by a fungal process

Patent number: FR2836910
Publication date: 2003-09-12
Inventor: FLEURY SYLVIE
Applicant: AMENAGEMENT URBAIN & RURAL (FR)
Classification:
- **international:** C02F3/00; C02F3/34; C02F1/72; C02F3/12; C02F11/02; C02F3/00; C02F3/34; C02F1/72; C02F3/12; C02F11/02;
(IPC1-7): C02F3/34; C02F11/02
- **european:** C02F3/00; C02F3/34; C02F3/34Z
Application number: FR20020005277 20020426
Priority number(s): FR20020005277 20020426; FR20020002947 20020308

**Also published as:**

WO03076351 (A1)
EP1483215 (A1)
US2005115892 (A1)
AU2002310666 (A1)

[Report a data error here](#)

Abstract not available for FR2836910

Abstract of corresponding document: **US2005115892**

The invention relates to a method for treatment of predominantly urban sewage plant sludges, characterised in comprising a step for treatment of the sludges by microfungi.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 836 910

(21) N° d'enregistrement national :

02 05277

(51) Int Cl⁷ : C 02 F 3/34, C 02 F 11/02

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 26.04.02.

(30) Priorité : 08.03.02 FR 00202947.

(71) Demandeur(s) : SOCIETE D'AMENAGEMENT
URBAIN ET RURAL Société anonyme — FR.

(72) Inventeur(s) : FLEURY SYLVIE.

(43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 12.09.03 Bulletin 03/37.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : Se reporter à la fin du
présent fascicule

(60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire(s) : REGIMBEAU.

(54) PROCEDE DE DEGRADATION DE LA MATIERE ORGANIQUE PAR VOIE MYCELIENNE.

(57) Procédé de traitement de boues de station d'épuration
à dominante urbaine, caractérisé en ce qu'il comprend une
étape de traitement des boues par des micromycètes.

FR 2 836 910 - A1



L'invention concerne un procédé de traitement biologique pour la réduction des boues de stations d'épuration et une installation mettant en œuvre 5 un tel procédé. Plus spécialement le domaine considéré est celui du traitement des eaux résiduaires à dominante urbaine.

Ce procédé est particulièrement destiné au traitement de boues issues du traitement de tels effluents à dominante « urbaine » et dont l'épandage réglementé nécessite des solutions de traitement sans transfert du problème de pollution et 10 dans le cadre du respect des écosystèmes.

On connaît déjà différents traitements d'épuration des eaux usées. Typiquement, les eaux usées subissent un traitement physique et/ou chimique (éventuellement en plusieurs étapes) conduisant à la production de boues. Ces 15 boues subissent alors une activation par voie chimique et/ou enzymatique, ou tout mécanisme analogue, puis éventuellement une déshydratation, une centrifugation, un séchage (ou analogue) avant d'être évacuées de la station d'épuration.

En particulier, afin de réduire le volume de boues généré dans les procédés de traitement des eaux usées de type « boues activées » ou similaire, on cherche à favoriser le catabolisme des microorganismes endogènes. Ceci peut être 20 réalisé en jouant sur l'âge des boues ou encore en couplant des procédés associant la lyse cellulaire avec un traitement biologique aérobie (CO_2) ou anaérobiose (CH_4).

Différents procédés de digestion anaérobiose, aérobie (thermophile ou non) sont connus. Ils utilisent des biomasses transformantes constituées en grande partie de bactéries, telles que *Pseudomonas*, dont le cycle de vie conduit à la 25 transformation d'une fraction du carbone organique de la boue en gaz (CO_2 ou méthane). Le processus est contrôlé par un temps de séjour des boues minimal mais suffisamment long.

D'autres procédés visent à limiter la biomasse très variée retrouvée dans les boues : bactéries, algues notamment.

Malgré les différents procédés connus, la quantité de boues est souvent trop élevée et le besoin demeure de la réduire encore très fortement. Les traitements anaérobies thermophiles connus donnent des résultats meilleurs que les traitements aérobies mais nécessitent des installations complexes.

5 L'invention vise à pallier les inconvénients de l'art antérieur.

L'invention vise en particulier à dégrader une fraction plus importante de la matière organique de la boue dans une gamme allant de 20 à 40 % en moyenne de la quantité de Matière Sèche (Matière Organique et Matière Minérale) des boues, afin de diminuer d'autant le volume.

10 L'invention peut viser également à contrôler en outre le rythme de cette dégradation, pour optimiser le rythme de traitement des effluents en fonction des contraintes amont et aval de l'installation.

15 L'invention vise aussi une économie globale des coûts d'exploitation d'une station de traitement et d'épuration STEP, les dépenses d'élimination des boues résiduelles étant croissantes.

A cet effet l'invention a pour objet selon un premier aspect un procédé de traitement de boues de station d'épuration à dominante urbaine, comprenant une étape de traitement des boues par des micromycètes.

20 Par le terme micromycètes, on fait référence à des microorganismes, par opposition aux champignons supérieurs. On entend à la fois la notion de mycélium qui est l'appareil végétatif, et les spores. On entend de plus tout champignon inférieur, utilisé en quantité suffisante pour contribuer à la dégradation des boues, cette dégradation étant évaluée par des techniques appropriées à la portée de l'homme du métier. Ainsi les espèces citées plus loin sont à considérer comme des exemples non limitatifs, l'invention couvrant l'utilisation d'espèces dont l'activité de dégradation des boues est démontrée. Dans la description qui suit on utilisera indifféremment le terme micromycète ou mycélium par souci de simplicité.

De manière préférée, on inclut tout particulièrement des espèces qui peuvent être sélectionnées par des protocoles de sélection appropriés tels que décrits plus loin. Cette sélection de souches ensuite mises en culture facilite la production en grande quantité d'une préparation mycélienne active contre les 5 boues. Une fois la sélection de souches effectuée, une préparation d'au moins une de ces souches sera administrée aux boues à traiter.

Parmi les micromycètes efficaces pour dégrader les boues, certaines espèces peuvent être retrouvées dans des boues de station d'épuration. On parle de micromycètes endogènes. Mais ces micromycètes sont présents en quantité 10 insuffisante dans ces boues pour les dégrader de manière suffisante. Et ils ne sont pas implantés dans des conditions favorisant le mode de métabolisme recherché pour une dégradation optimale de la matière.

Certaines espèces peuvent également être obtenues à partir d'autres sources biologiques.

15 Selon une réalisation, le procédé comprend, en parallèle du traitement des boues par les micromycètes, la culture en continu des micromycètes.

Le temps de traitement des boues par les micromycètes est compris typiquement entre 1 et 10 jours, typiquement entre 2 et 5 jours. Les flux de mycélium et de boues à traiter sont régulés dans l'installation en conséquence. 20 Il est réalisé typiquement à pH de l'ordre de 5.5 à 9, à une température entre 10 et 30°C. On préférera une agitation lente, avec une oxygénation de l'ordre de 1 à 4 mg/L d'oxygène dissous.

Selon une réalisation on utilise une seule souche de micromycètes. Selon une autre réalisation on associe plusieurs souches différentes, formant un mélange 25 mycélien, éventuellement à effet synergique.

Selon des réalisations préférées, les micromycètes sont choisis parmi les genres *PENICILLIUM*, *TRICHODERMA*, *PHOMA*, *MUCOR*, *FUSARIUM*, *GALACTOMYCES*, *ASPERGILLUS*, *BOTRYTIS*, *GEOMYCES* et leurs mélanges.

En particulier on pourra utiliser parmi les moisissures *PENICILLIUM roqueforti*, *PENICILLIUM camembertii*, *PENICILLIUM chrysogenum (notatum, meleagrinum, flavidomarginatum, rubens, chlorophaeum, camerunense, aromaticum, harmonense)*, *PENICILLIUM atramentosum*, *TRICHODERMA viride*, *TRICHODERMA Koningii*, *TRICHODERMA reesei*, *MUCOR hiemalis*, *MUCOR mucedo*, *MUCOR racemosus*, *MUCOR circinelloïdes*, *MUCOR fuscus*, *MUCOR circinelloides*, *MUCOR racemosus*, *MUCOR plumbeus*, *GALACTOMYCES geotricum*, *ASPERGILLUS phoenicis*, *ASPERGILLUS niger*, *ASPERGILLUS ficuum*, *FUSARIUM equisetii*, *GEOTRICUM candidum*, *PHOMA glomerata*, *BOTRYTIS Cinerea*, *GEOMYCES pannorum* et leurs mélanges.

Selon un mode de réalisation, d'autres microorganismes sélectionnés, non mycéliens, peuvent être associés éventuellement à la composante mycélienne pour vivre en synergie et développer les mêmes fonctions. Ces microorganismes sont notamment des bactéries, des levures, des protozoaires, des amibes.

Parmi les levures, on pourra utiliser des levures *Saccharomyces*.

Parmi les bactéries, on pourra utiliser des bactéries du genre *Bacillus*, et en particulier des *alicyclobacillus*, des *paenibacillus*, des *brevibacillus*, des *aneurinibacillus*, des *virgibacillus*. On pourra utiliser en particulier les espèces suivantes de *Bacillus* : *subtilis*, *anthracis*, *cereus*, *licheniformis*, *megaterium*, *pumilus*, *sphaericus*, *thuringiensis*. Parmi les espèces de bactéries thermophiles on pourra en particulier utiliser : *bacillus stearothermophilus*, *bacillus thermoglucosidasius*, *bacillus thermodenitrificans*.

On pourra également utiliser des bactéries *halobacillus* telles que *sporosarcina halophila*.

Selon un autre mode de réalisation, à l'inverse, on associera des micromycètes à au moins un autre microorganisme produisant un agent antibiotique. La demanderesse a en effet constaté, de manière surprenante, l'effet synergique sur la dégradation des boues obtenu par l'utilisation combinée d'agents antibiotiques et de micromycètes. Les agents antibiotiques peuvent être produits *in situ* ou

additionnés avant ou en même temps que les micromycètes. De tels agents antibiotiques peuvent être apportés par certaines espèces comme le *Penicillium* (notamment *chrysogenum*) et des *Aspergillus*, des *Paecilomyces*. L'interprétation proposée réside dans l'effet inhibiteur de l'activité bactérienne par les 5 antibiotiques au profit du fonctionnement de la population mycélienne, ce qui permet de favoriser la dégradation de la matière. Les métabolismes mycéliens sont ainsi renforcés par rapport aux métabolismes bactériens dans la cuve de digestion mycélienne (bassin de contact décrit plus loin).

On pourra également utiliser d'autres espèces productrices d'antibiotiques, telles 10 que des *streptomyces*. Les molécules antibiotiques sont typiquement des enzymes, et/ou des molécules protéiques, des composés cycliques, des acides fuscidiques. Selon des réalisations, on n'utilise de telles espèces capables de générer des molécules antibiotiques qui permettent de favoriser l'implantation de la biomasse exogène au détriment de la biomasse endogène, qu'en phase de démarrage ou 15 ponctuellement dans l'année d'utilisation. En effet, ces espèces aident les espèces mycéliennes à bien s'implanter, ce qui permet d'optimiser le processus de dégradation de la matière organique.

Selon une réalisation, on utilise des espèces productrices d'agents antibiotiques pour favoriser l'implantation des espèces mycéliennes dans le bioréacteur pour 20 éviter une contamination du bioréacteur.

Selon un autre mode de réalisation très avantageux, on associera aux micromycètes des agents oxydants. La demanderesse a en effet constaté de manière surprenante l'effet synergique sur la dégradation des boues, de l'utilisation combinée d'agents oxydants et de micromycètes.

25 Le procédé comprendra alors une étape de traitement des boues par au moins un agent oxydant, injecté en ligne ou dans une cuve de prétraitement. Ce traitement oxydant précède le traitement biologique par des micromycètes, et a une durée typiquement inférieure à trois heures, de préférence de l'ordre de 30 minutes.

De manière préférée, l'agent oxydant comprend H₂O₂ et des sels ferreux ou ferriques. On préférera le réactif de Fenton ou analogue. Toutefois d'autres oxydants peuvent être utilisés tels que COMPLETER

Tout comme dans le cas de l'utilisation d'antibiotiques décrite 5 précédemment, l'utilisation d'un tel agent oxydant permet de déséquilibrer les populations présentes dans les boues et dans la cuve de digestion mycéienne en faveur des espèces mycéliennes, ce qui permet d'augmenter leur travail de dégradation de la matière.

La demanderesse a en effet démontré qu'à un dosage donné de réactif de Fenton 10 (calculé en fonction de la concentration des boues exprimée en MES g/l), une réaction de pré-drégadation de la matière génère une accessibilité plus aisée au substrat pour les espèces mycéliennes présentes dans notre cocktail.

L'utilisation du réactif de Fenton augmente de 5 à 30 % en moyenne (parfois plus selon les qualités initiales des boues) le rendement de dégradation de la matière 15 organique par rapport à l'utilisation seulement de micromycètes.

On pourra utiliser des sels ferreux ou des sels ferriques. Le réactif est typiquement utilisé à des températures de l'ordre de 10 à 40°C. La quantité de réactif sera contrôlée afin d'éviter une élévation trop forte de température lors du traitement oxydant.

20 Le pH des boues traitées par le réactif de Fenton est typiquement de l'ordre de 5 à 8, de préférence de l'ordre de 5,5 à 6,5. On utilisera typiquement une dose de 0.001 à 0.1 g H₂O₂/gMES (MES initialement présente dans l'alimentation de la cuve de digestion mycéienne) et 0.0001 à 0.01 g FeSO₄/gMES (MES initiale), 25 de préférence 0.01 g H₂O₂/gMES associé à 0.001 g FeSO₄ / g MES. La solution de H₂O₂ de laboratoire titre à 50 %, la solution industrielle (par tonne) titre à 30 % ; quant au sulfate de fer FeSO₄ il se présente le plus souvent sous forme de cristaux vendus commercialement sous forme solide.

La demanderesse a démontré que le réactif de Fenton utilisé seul sur les boues 30 non additionnées du cocktail mycélien après le traitement oxydant, n'a pas d'effet

au pH naturel et dans les conditions de traitement. L'interprétation proposée de l'effet synergique surprenant constaté est, d'un point de vue microbiologique, une inhibition du métabolisme bactérien partiel ou total selon les cas par l'oxydant utilisé, ce qui crée un différentiel utilisé par les espèces mycéliennes 5 qui ont accès au substrat beaucoup plus facilement et librement.

Selon une réalisation, la culture des micromycètes est aérobie, et se fait en continu en bioréacteur.

10 Selon une réalisation, les boues sont traitées en continu. Le débit de traitement est fonction d'une part de la concentration en MS des boues, et d'autre part de la charge polluante. On estime par tranche de 1000 eq.hab (avec prise en compte d'un rapport MS/DBO5 de l'ordre de 0.8 à 1, ce paramètre variant selon le type d'eaux usées à traiter) une variation de débit de l'ordre de 2 à 10 m³/jour/1000 eq.hab.

15 Selon un mode de mise en œuvre en continu, les micromycètes sont injectés à un débit de l'ordre de 0.01 à 10% du volume de boues à traiter par jour, typiquement de l'ordre de 2 à 5%. Comme on le verra, ils sont administrés sous forme d'une culture en milieu liquide.

20 Selon un mode de mise en œuvre dans lequel les boues sont traitées en discontinu, les micromycètes sont injectés à raison d'un volume de 0.01 à 15%, typiquement de l'ordre de 2 à 10% du volume de boues à traiter par jour.

Grâce à l'invention, la quantité de matière sèche des boues traitées par les micromycètes est réduite de l'ordre de 10 à 50%, typiquement de l'ordre de 20 à 25, par rapport à celle des boues non traitées. Selon les paramètres de réglage 25 cette dégradation peut être supérieure.

Selon un autre mode de réalisation le procédé de traitement par micromycètes comprend une étape simultanée de filtration membranaire des boues (effluents) traitées par les micromycètes.

Selon un autre aspect l'invention concerne un procédé de traitement des eaux dans une station d'épuration à dominante urbaine, comprenant les étapes successives suivantes :

- traitement physique et/ou biologique des eaux usées, conduisant à la production de boues acheminées dans au moins une cuve de premier traitement,
 - le cas échéant activation des boues de ladite cuve,
 - le cas échéant clarification des boues activées,
 - traitement biologique par des micromycètes, d'au moins une partie des boues le cas échéant activées, dans au moins un bassin de contact biologique situé à l'aval de la cuve de premier traitement, en mettant en oeuvre un procédé tel que décrit précédemment,
 - le cas échéant évacuation des boues traitées dans le bassin de contact biologique.
- 15 Selon un autre aspect l'invention concerne un procédé de traitement des eaux dans une station d'épuration à dominante urbaine, comprenant les étapes successives suivantes :
- traitement physique et/ou biologique des eaux usées, conduisant à la production de boues (effluents) acheminées dans au moins une cuve de traitement mixte,
 - le cas échéant activation des boues de ladite cuve,
 - traitement biologique par des micromycètes et à l'aide d'un système de filtration membranaire, d'au moins une partie des effluents le cas échéant activées, dans la cuve de traitement mixte, en mettant en oeuvre un procédé membranaire tel que décrit précédemment.

Selon un autre aspect l'invention concerne une installation de traitement d'effluents de station d'épuration à dominante urbaine, destinée à mettre en œuvre un tel procédé, comprenant :

- 30 - une cuve de premier traitement comportant des boues d'épuration,

- en aval de la cuve de premier traitement, au moins un bassin de contact biologique destiné à la dégradation d'au moins une partie des boues par les micromycètes,
- en parallèle du bassin de contact biologique, un bioréacteur de culture en continu de micromycètes.

5 Selon un autre aspect l'invention concerne une installation de traitement d'effluents de station d'épuration à dominante urbaine, destinée à mettre en œuvre un procédé combinant traitement par micromycètes et traitement membranaire, comprenant :

- 10 - une cuve de traitement mixte comportant des effluents d'épuration à traiter, destinée à la dégradation d'au moins une partie des boues (effluents) par les micromycètes, la cuve de traitement mixte comprenant un système de filtration membranaire,
- en parallèle de la cuve de traitement mixte, un bioréacteur de

15 culture en continu de micromycètes,

Typiquement, le bioréacteur comprend :

- des moyens d'arrivée de nutriments et d'un inoculum à cultiver,
- des moyens de répartition homogène des micromycètes dans le bioréacteur,
- 20 - des moyens de transfert de micromycètes cultivés vers le bassin de contact.

Dans les réalisations avec bassin de contact de digestion mycélienne, celui-ci comprend des moyens d'arrivée des micromycètes, des moyens d'arrivée des boues, des moyens d'agitation, des moyens d'aération, des moyens d'évacuation 25 des boues traitées, et de préférence des moyens de régulation des débits d'arrivée et de sortie des boues et des micromycètes, du pH et de la température.

Le bassin de contact a une capacité adaptée à l'installation. La capacité est notamment fonction du temps de séjour des boues à traiter. A titre d'exemple, pour un temps de séjour des boues traitées de 5 jours et une concentration de 6 à

20 g/L en MS, le volume du bassin de contact varie de 10 à 40 m³ par tranche de 1000 eq.hab (équivalents habitants).

Le traitement peut être biologique ou mixte (agents chimiques et biologiques).

5 Typiquement dans les réalisations utilisant des antibiotiques, on associe des espèces connues pour secréter des principes antibiotiques utilisés au sein même du bassin de contact afin d'inhiber la population bactérienne. Ceci requiert de développer et produire ces mêmes espèces au sein du bioréacteur mais aussi éventuellement, et dans certains cas, dans un bioréacteur parallèle. On préparera 10 ainsi des échantillons composés du cocktail de micromycètes de dégradation associé aux espèces qui devront agir comme inhibiteurs bactériens.

Dans les réalisations utilisant des agents oxydants, des résultats nettement meilleurs sont obtenus lorsque les micromycètes sont injectés en aval de cette oxydation. L'interprétation proposée est la suivante. Les boues de stations 15 d'épuration sont constituées majoritairement de biomasse. Cette biomasse native est difficile à atteindre telle que l'effet d'un oxydant permet de dégrader partiellement ces bactéries constitutives de la boue. Ces molécules de bactéries (bactéries natives détruites) constituent des substrats plus accessibles pour les espèces de micromycètes. La mise en contact des boues prétraitées par oxydation, 20 avec les boues du bassin de contact, conduit au déséquilibre des populations au sein de la cuve au profit des micromycètes.

De préférence, l'oxydation a lieu en un temps court de l'ordre de 30 mn, en amont du bassin de contact, ce qui permet de ne pas agresser les espèces mycéliennes. On utilisera soit une injection en ligne en respectant un temps de 25 séjour en amont, soit une cuve d'un temps de séjour en moyenne de 30 mn avec agitation.

Selon une variante on utilisera par exemple une cuve de stockage de H₂O₂, une cuve de stockage de sels de sulfate de fer, une cuve de préparation du mélange oxydant. Selon une autre variante on utilisera des dosages injectés de réactif 30 oxydant directement, à l'aide de pompes et régulations appropriées.

Selon les performances souhaitées et le type de boues à traiter on pourra choisir un traitement seulement par micromycètes, ou un traitement par micromycètes associé à un traitement oxydant et/ou un traitement antibiotique.

5 D'autres objets et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture de la description détaillée qui suit, illustrée par la figure 1.

Une installation 1 connue de l'art antérieur comprend d'amont en aval :
-un bassin de stockage et/ou de traitement 2 des eaux à traitées, dans lequel peuvent avoir eu lieu des prétraitements mécaniques et/ou chimiques,
10 -en aval de ce bassin 2, au moins un bassin de boues ou cuve de premier traitement 3, les boues n'étant pas encore exposées aux mycéliums, et étant éventuellement activées,
-en aval de ce bassin de boues activées 3, un bassin de clarification ou similaire 4, la fraction clarifiée sortant de ce bassin 4 étant évacuée en sortie 5 de la station
15 d'épuration.

La fraction boues en sortie du bassin 4 est reconduite, par des moyens de transfert 6 vers le bassin 3 de boues activées.

20 Selon l'invention, l'installation 1 comprend en outre :
-un bassin de contact 8 dans lequel les mycéliums sont mis en contact avec les boues qui proviennent du prélèvement des boues recirculées par des moyens de conduite 7, ou éventuellement directement du bassin 3 par des moyens de conduite 7a
25 -un bioréacteur 9 de culture des mycéliums, transférés par un conduit 10 jusqu'au bassin de contact 8.

Les boues ainsi traitées par les mycéliums sont évacuées du bassin 8 vers une zone 11 de traitement des boues et de stockage. Les boues subissent le cas échéant un traitement ultime ou encore une association de traitements (déshydratation, centrifugation, séchage, thermolyse, incinération) des boues (ou

autres débouchés) dans une zone avalé 15. Le bassin de contact 8 comprend une arrivée d'air 12.

Lorsque l'on prévoit un prétraitement des boues typiquement à l'aide d'au moins un agent oxydant tel que décrit précédemment, l'installation comprend une cuve de pré-traitement 16 en amont du bassin de contact (ou cuve de digestion mycélienne) 8, donc positionnée soit sur la ligne 7 d'alimentation des boues soit encore sur la ligne de prélèvement 7 a.

Par souci de clarté on a représenté à chaque étape un seul élément de l'installation. Il est entendu que le nombre de chaque élément est susceptible 10 d'être adapté en fonction du dimensionnement et du type d'installation.

Le bioréacteur 9 fonctionne suivant le principe analogue au "lit à ruissellement", en utilisant un support à garnissage ordonné. Ce bioréacteur 9, qui pourrait être nommé "lit mycélien" de faible volume dans une proportion allant de 1/100^{ème} à 1/50^{ème} du bassin de contact 8, est utilisé pour cultiver le cocktail 15 mycélien sur support aéré après avoir été sélectionné pour chaque type de boue. La taille du bioréacteur 9 est dépendante du flux à traiter mais aussi de la qualité et /ou de la composition des effluents à traiter. Une quantité appropriée de préparation mycélienne est transférée à l'aide de la conduite 10 dans la cuve de contact 8. La préparation mycélienne produite dans le bioréacteur 9 comprend des 20 spores et des mycéliums.

Le volume de boue traitées dans le bassin de contact 8 correspond à un temps de séjour de plusieurs jours, il est aéré et ensemencé par les spores et le mycélium produits in situ, et brassé en continu à l'aide d'un agitateur 14.

Les boues traitées sont éventuellement dirigées de la sortie S du bassin de 25 contact 9 par une conduite 17, vers une zone 11 aérée afin de prévenir tout risque de relargage des phosphores dans le cas où une déphosphatation par voie biologique (ou mixte) aurait été appliquée dans la filière en amont. Dans d'autres cas, le volume dimensionnant ayant pris en compte un déversement direct dans le système de déshydratation (ou tout autre système) situé en aval, le pompage des 30 effluents se fait directement sans stockage intermédiaire. Il est à noter que le

dimensionnement de la filière boue en aval se trouve diminué du fait de la réduction du volume des boues, mais également optimisé grâce à l'obtention d'une meilleure drainabilité de la boue et une meilleure aptitude à la déshydratation.

5 L'exploitation du système peut prendre les deux formes, continue ou par bâchée. En site industriel, le fonctionnement continu sera privilégié afin d'obtenir un lissage des valeurs de dégradation de la matière et de favoriser les conditions de développement de la population mycélienne. Le fonctionnement par bâchée peut aussi trouver des applications lors de fonctionnements saisonniers.

10 Dans un fonctionnement en continu, le procédé comprend une phase de pompage des boues extraites de la filière boues activées dans le bassin 3, ou sur la recirculation 6, permettant d'alimenter la phase de traitement aérobie dans le bassin de contact 8 . Ce bassin 8 est sous la forme d'un ouvrage équipé de rampes d'aération 13 et selon les conceptions d'un système d'agitation 14. La 15 biodigestion aérobie est alimentée en continu d'une part par les boues à dégrader venant du bassin de boues 3 et d'autre part par le mélange mycélien qui se développe de manière indépendante dans le bioréacteur 9.

La boue (également désignée effluent à traiter), dont le pH préconisé varie entre 5.5 et 9, alimente ce bassin de contact 8 par pompage avec un débit modéré 20 sur la recirculation des boues du bassin d'aération, à l'aide d'une pompe principale et d'une pompe de secours en parallèle. Le remplissage du bassin de contact 8 est ainsi progressif, continu et régulé tout en respectant un temps de séjour dans ce bassin 8 d'au maximum 10 jours de l'effluent à traiter et d'au minimum 24 heures.

25 Selon les flux à traiter avec prise en compte de la gestion des volumes de stockage, cette durée peut être augmentée, l'efficacité du procédé n'en sera que très légèrement favorisée et le temps complémentaire ne correspondra pas à un optimum économique.

Le bassin de contact 8 est dimensionné en prenant en compte le temps de 30 séjour et la concentration des boues exprimée en MS (g/L) : ceci impose un

volume global classiquement doté des équipements nécessaires à son bon fonctionnement. Cet ouvrage est aéré en fond de bassin. Des rampes d'aération type moyenne bulle peuvent être sélectionnées ou tout système similaire.

Une homogénéisation syncopée est éventuellement requise selon les 5 périodes et le type d'effluents à traiter.

Le bassin de contact 8 contient une population mycélienne sensiblement constante car le système connecté de type bioréacteur 9 permet de générer des populations continues à taux de croissance limité.

Une régulation automatisation simple connue de l'homme du métier 10 permet d'agir à la fois sur l'aération et le brassage.

Des sondes de régulation et ou d'indication de température, d'oxygénation et de pH sont souhaitables afin de vérifier la bonne stabilité de ces paramètres : pH pouvant varier de 5,5 à 9, température de 10 à 30 °C, agitation lente, oxygénation de 1 à 5 mg/L d'oxygène dissous (dans certain cas ce paramètre peut 15 être majoré), temps de séjour environ de 5 jours.

On décrit maintenant plus précisément le bioréacteur 9 de production de mycéliums en continu. Celui-ci doit être capable de fournir à la biomasse microbienne qu'il contient et qui s'y développe, la quantité d'oxygène dont elle a besoin. Il s'agit de mélanger trois phases : une phase aqueuse (le milieu de culture), une phase gazeuse (le gaz d'oxygénation des mycéliums, typiquement de l'air), une phase biotique constituée par la biomasse microbienne à majorité mycélienne.

Le bon déroulement du procédé est lié aux phénomènes de transferts entre les cellules (mycéliums et spores) et le milieu de culture. Il s'agit tout d'abord de 25 transfert de matière, du milieu extérieur vers la cellule pour ce qui est du substrat et des composés du milieu de culture nécessaires à la croissance cellulaire, en sens inverse pour les produits du métabolisme des cellules en culture. Pour que les transferts puissent s'effectuer correctement, la répartition des cellules dans le milieu de culture doit être la meilleure possible. En culture aérobie des 30 mycéliums, c'est le gaz d'oxygénation qui crée la turbulence et permet le

maintien des cellules en suspension homogène. La géométrie du bioréacteur est conçue pour que le transfert d'oxygène soit le plus efficace possible.

L'apport de nutriments permet de favoriser le développement des microorganismes micromycètes et exerce donc une influence sur le comportement 5 cinétique de la population microbienne présente.

Pour que les microorganismes soient répartis de façon homogène, que l'oxygène nécessaire soit apporté et la température maintenue, on utilise des moyens de transfert appropriés. Au fur et à mesure que le développement microbien se poursuit, la concentration cellulaire augmente, la concentration en 10 produits synthétisés par les microorganismes aussi, tandis que le milieu s'appauvrit en substrat. Le bioréacteur 9 comprend typiquement, à l'entrée d'air, un système de filtration de l'air, destiné à éviter une contamination par des microorganismes non souhaitée, levures notamment.

Durant le traitement des boues dans le bassin de contact 8, les 15 caractéristiques rhéologiques et chimiques du milieu changent, ce qui entraîne des modifications de fonctionnement, les transferts ne s'effectuant plus de la même façon. Il est donc recommandé d'agir sur les modalités de fonctionnement pour faire en sorte que la population microbienne soit à tout moment dans les meilleures conditions et que son comportement cinétique soit optimal au sein du 20 bassin de contact 8 : puissance d'agitation, et/ou débit d'air, et/ou ajout de substrats, voire ajout de réactifs, et/ou la régulation de la température et du pH (toutes ces opérations étant facilement automatisables).

Le bassin de contact 8 est conçu en fonction du type de processus qui doit s'y dérouler. Quel que soit le microorganisme, le bioréacteur 9 est conçu pour 25 permettre un contact aussi bon que possible entre les deux phases biotique et abiotique du système. Le bioréacteur instaure le régime établi du procédé décrit.

Lorsque le régime établi est atteint (niveau de performance de réduction des boues maximum), l'apport régulier d'une quantité suffisante de boues (substrat pour la flore) permet de maintenir la population microbienne à un degrés de 30 performance constant. L'obtention d'une station de traitement fonctionnant

comme un fermenteur industriel (production de biomasse) c'est à dire le plus souvent en mode chemostat (une culture en milieu renouvelé) garantie la rusticité, simplicité et l'autonomie du système.

Le traitement efficace des boues dans le bassin de contact 8 est obtenu en
5 utilisant un apport de micromycètes, produits in situ dans le bioréacteur 9, dans le bassin 8, et/ou une recirculation de boues ayant déjà séjourné dans le bassin de contact 8. Le choix dépend notamment du type d'effluents à traiter. Selon une réalisation, le traitement par les micromycètes s'effectue avec une recirculation sur la filière eau : des boues traitées par les micromycètes sont évacuées de la
10 sortie S, empruntent la conduite 17 puis une conduite 17a pour revenir vers la conduite 6.

Afin de pallier les « accidents aléatoires » (variations non contrôlables ou prévisibles des boues), le concept de la bio-augmentation est intégré dans le procédé. On utilisera de préférence un système de culture et/ou d'injection afin
15 d'apporter en permanence une forte charge de microorganismes. Cette culture est effectuée dans le bioréacteur 9 à partir de produits microbiens sélectionnés (inoculum de souches et son milieu de culture à base d'extrait de malte, d'amidon ...) et de nutriments spécifiques (source de carbone, d'azote, etc. ...) pour l'amplification de l'inoculum.

20 Selon une réalisation, des apports répétitifs de biocatalyseurs pourront être automatiquement réalisés au cours du process. Dans ce cas des boues chargées en micromycètes (application de l'inoculation au premier jour) servent elles-mêmes d'inoculum. Toutefois, dans certains cas, compte tenu de la richesse et de la complexité naturelle des boues en microorganismes, les cultures de micromycètes
25 peuvent ne pas être suffisamment spécifiques (développement anarchique en présence des nutriments d'une flore non-spécifique et non-répétitive). On utilisera alors de préférence un mélange entre une flore de champignons « exogènes » sélectionnés et d'une autre flore « endogène » amplifiée et régulée par les nutriments. Le procédé permet alors de surdosier en permanence le « principe actif » et de maintenir la performance technique malgré des variations dans les
30

flux ou la composition des boues. Le bioréacteur 9, permettant la production sur site et/ou l'injection en continu de microorganismes dans le bassin de contact 8, permet une colonisation permanente et optimale des boues. Par rapport à la définition du mode chemostat qui implique une seule inoculation au premier jour 5 et ensuite une autosuffisance, il s'agit d'une sécurité supplémentaire.

Au démarrage de l'installation, le système estensemencé par un cocktail sélectionné et adapté au type d'effluent à dégrader. Cette étape permet la mise en route de l'installation car elle génère le fonctionnement autonome de l'ensemble.

Le bioréacteur 9 peut se présenter sous des formes très variées, telle 10 qu'une colonne cylindrique, de hauteur variable selon les flux dimensionnants : air, surface du garnissage de contact. Il comprend par exemple trois parties : une partie basse permettant de collecter un liquide chargé de mycélium, pompé puis reversé dans la partie haute de la colonne qui forme un système de pulvérisation (rampe d'aspersion conçue de telle manière que les mycéliums ne soient pas 15 morcelés). La partie centrale contient un garnissage de type structuré ou autre, permettant d'optimiser l'implantation de la population cultivée, sa fixation et son développement dans des conditions favorables. Ce garnissage peut être de différents types et de différents matériaux, l'essentiel étant de permettre la fixation des mycéliums.

20 Cette aspersion générée par une recirculation du liquide (via une pompe) permet son ruissellement sur le garnissage de la tour et humidifie ainsi les mycéliums qui adsorbent les composants du liquide.

Ce bioréacteur 9, d'une capacité de l'ordre de quelques litres ou dizaines 25 de litres selon la taille de l'installation, est surmonté d'un couvercle de type toit laissant passer librement le flux d'air mais prévenant des chutes pluviales.

Les échanges sont favorisés par un contre-courant entre l'air et le liquide concentré percolant sur le garnissage. L'injection du flux via le bassin de dégradation de la matière est réalisée de préférence de manière gravitaire ou, à défaut, la technologie de pompage permet de conserver les microorganismes

injectés dans un métabolisme favorable. Une thermorégulation peut-être nécessaire dans le cas où le bioréacteur 9 ne serait pas protégé du gel.

Le bioréacteur 9 est conçu de manière à obtenir une consommation très limitée d'inoculum à planter, du fait de l'autonomie du système qui fonctionne en recirculation permanente, cette recirculation assurant un contact optimal pour la population mycélienne avec les constituants favorisant son développement. La température y est typiquement de l'ordre de 10 à 30 °C.

Un suivi analytique biologique ponctuel permet de vérifier la croissance des différentes espèces de mycéliums constitutives du cocktail sélectionné.

Un suivi analytique chimique, existant sur les stations de traitement permet de se situer sur les performances du système. Le temps de dégradation est prédéfini selon les caractéristiques initiales mais peut varier selon les variations de flux traité en amont. C'est un système qui s'adapte parfaitement à ce genre de fluctuation : les suivis analytiques permettent de s'assurer du bon rendement de dégradation.

Selon une variante, le procédé de traitement par voir mycélienne peut être mis en place en recirculation sur la boue activée, soit sur la filière de traitement eau. Le procédé est analogue à celui décrit tant sur le plan du concept que du dimensionnement. Néanmoins les gammes de variation des débits, temps de séjour, volume du bassin de contact, sont différentes et génèrent des optimisations imposant des critères de sélection des ouvrages différents. La sélection mycélienne est la même et pourra même bénéficier de synergies entre les flores bactériennes et mycéliennes.

Dans les réalisations utilisant un oxydant tel que la réactif de Fenton, cet oxydant est typiquement injecté dans la cuve de prétraitement 16 ou en ligne selon les réalisations et les temps de séjour retenus sur les liaisons 7 ou 7a.

On décrit maintenant un autre mode de réalisation de l'invention faisant intervenir un procédé de filtration membranaire des boues traitées par les micromycètes.

Dans ce procédé membranaire illustré par la figure 2, l'installation 1 ne comprend pas de bassin de contact ou cuve de digestion mycéienne 8 : la digestion des boues par micromycètes a lieu directement dans un bassin de prétraitement 18 dans lequel sont plongés des moyens de filtration 19. Ce bassin 5 18 est analogue au bassin 3 décrit précédemment mais contient en plus les moyens de filtration 19.

Dans ce bassin 18 désigné bassin de traitement mixte, combinant un traitement par les micromycètes et une filtration membranaire, les boues sont le cas échéant activées; le bassin 18 est aérobio.

10 L'eau traitée issue des moyens de filtration 19 est évacuée par une conduite 20 vers une sortie 21; la pression d'eau de submersion du module, soutenue par une pompe d'aspiration en aval, permet le passage de l'eau traitée à travers les membranes. L'eau est directement rejetée ou même potentiellement utilisable pour un recyclage. En effet, les parois membranaires permettent de 15 s'affranchir d'une étape de clarification et la qualité de l'eau est optimisée. On peut également prévoir un système de contrelavage 21a.

Les boues issues de la cuve 18 sont évacuées par une conduite 22 vers une filière boue 23 par exemple de déshydration.

En sortie de la filière 23, l'installation peut comprendre des moyens de 20 séparation 24, des boues extraites. Les boues peuvent être évacuées par une sortie 25 ou recirculer par des moyens de circulation 26 du filtrat en entrée 27 de la cuve de traitement mixte 18.

Tout comme dans le mode de réalisation décrit précédemment, l'installation comprend un bio réacteur 28 analogue au bioréacteur 9 décrit 25 précédemment.

Les micromycètes produits dans le bioréacteur 28 sont conduits vers la cuve de traitement mixte 18 par une conduite 29.

Le cas échéant, une partie du filtrat issu de la conduite 26 peut être acheminée par une conduite 30 vers l'entrée du bioréacteur 28.

Les moyens de filtration à membranes 19 se présente typiquement sous la forme d'un ou plusieurs modules 31 immergés dans la cuve mixte de traitement 18.

Le procédé associe un traitement biologique des eaux résiduaires par 5 boues activées à forte concentration en MES à une séparation de la biomasse de l'eau traitée par les membranes. Les modules de membranes 31 peuvent comprendre une aération à leur base destinée à assurer, d'une part l'apport d'oxygène nécessaire au bon développement de la biomasse (air nécessaire à l'aération des boues : temps requis de contact avec l'oxygène pour l'oxygénéation 10 de la culture mixte bactérienne et mycélienne), et d'autre part le passage de la liqueur mixte à travers le tissu membranaire. Ce système d'aération grosses bulles peut parfois être associé à un système fines bulles additionnel afin de satisfaire les besoins.

Un système adapté de contre pression peut être utilisé pour permettre le 15 décolmatage ponctuel des membranes. Un système de contre lavage peut aussi permettre ce décolmatage. La perméabilité des membranes assure la rétention des matières en suspension aussi bien que de la majorité des bactéries et des germes. On pourra utiliser par exemple des membranes fibres creuses hydrophiles ayant 20 une perméabilité de l'ordre de 0,1 à 0,4 µm. Le besoin énergétique total du procédé est de l'ordre de 2 à 3 kWh/m³ de perméat. Le rendement spécifique est de l'ordre de 0,4 à 0,5 m³ par m²/jour.

Grâce à une telle installation permettant aux espèces mycéliennes de travailler in situ dans la filière eau, l'association d'un procédé de traitement par micromycètes et d'un procédé membranaire rend optimales les conditions de 25 traitement.

Plusieurs avantages sont constatés :

- ceux du procédé membranaire (qualité de l'eau optimisée ; absence de clarification (ouvrages importants));
- dans ce procédé, la concentration en boue (en MES, MVS....) est supérieure à celle classiquement rencontrée dans la filière boue

activée seule. Cette concentration est favorable pour le procédé mycélien.

- grâce au couplage du procédé, il n'y a plus de "cuve mycéienne" puisque la digestion mycéienne se fait directement dans la boue activée.
5

Le procédé de réduction du volume de boue est compact est optimisé.

Le procédé membranaire, en soi, est décrit par exemple dans des documents tels que *Membrane bioreactors for municipal wastewater treatment* – Husain et al – WQI March/April 1999 .

10 Mais le couplage traitement aux micromycètes, procédé membranaire, optimise et améliore encore davantage le traitement. Par ailleurs, les membranes constituant un support des microorganismes lors du décolmatage à l'air, le film formé n'est pas totalement détaché du tissu membranaire, ceci est un avantage. En effet, le cocktail mycélien sélectionné se développe et dégrade la matière
15 organique indépendamment de ce "contact intime" créé par la membrane entre la boue et les souches mycéliennes constitutives elles-mêmes de la boue.

Néanmoins, ce film de contact accélère la réaction de dégradation. En outre, certaines espèces de mycètes à caractères spécifiques permettent de purifier les parasites éventuels. Ce procédé permet également avantageusement la
20 recirculation du filtrat soit dans le bassin 18 soit dans le bioréacteur 28 selon l'application : dans ce filtrat, des espèces sont encore préservées et recyclées.

Par ailleurs, on peut sélectionner le cocktail mycélien en fonction de la texture de la membrane. En effet, parmi les espèces cités dans le premier brevet, on sélectionnera un cocktail adapté et qui favorisera le développement d'espèces,
25 toujours selon un mode catabolique, qui n'endommageront pas les tissus membranaires. Les critères de travail restent les mêmes sur les membranes, le débit de travail est très différent selon les installations en moyenne 20 à 30 l/m²/h pour des membranes réalisées sous forme de plaque par exemple.

On décrit maintenant plus précisément les souches de micromycètes qui
30 peuvent être utilisés dans les procédés décrits précédemment (traitement aux

micromycètes, traitement couplé micromycètes / procédé membanaire ou encore association de pré-traitement oxydant en amont du traitement mycélien). Il s'agit bien entendu de souches non pathogènes

L'inventeur a isolé différentes souches de champignons micromycètes dans des boues de plusieurs stations d'épuration en utilisant des techniques appropriées. Les milieux de cultures suivants, GSC et PDA, classiquement utilisés pour des titrages de laboratoires, ont été utilisés pour l'isolement, la qualification et la quantification des populations microbiennes présentes dans des échantillons de boues de ces stations d'épuration :

| GSC – Gélose de Sabouraud au Chloramphénicol | | PDA – Gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre | |
|---|-------------------|--|--------|
| Peptone pepsidique de viande | 10 g/L | Extrait de pomme de terre | 4 g/L |
| Glucose | 20 g/L | Glucose | 20 g/L |
| Chloramphénicol (antibiotique) | 0.5 g/L 15 g/L | Agar bactériologique | 15 g/L |
| Agar bactériologique | | | |
| pH = 5.7 milieu favorisant la croissance des moisissures (plus sélectif que PDA) | | pH = 3.5 à 4.5 selon utilisation (régler le pH par ajout d'acide) | |
| Mélanger 45.5 g de milieu à 1L d'eau distillée | | Mélanger 39.0 g de milieu à 1L d'eau distillée | |

10

Ces milieux sont stérilisés par chauffage à 120°C pendant 15 minutes avant utilisation. Ils sont solides à température ambiante.

L'isolement et la quantification des populations mycéliennes présentent dans les boues de stations d'épuration ont été réalisés au moyen d'une technique de numérisation par culture sur boîtes de Pétri, méthode dite Unités Formant

Colonie (UFC) ou Sélection par épuisement. Les échantillons sont prélevés au niveau du circuit de recirculation des bassins de boues activées.

Cette technique consiste à ensemencer des parties aliquotes de suspensions-dilutions, réalisées à partir de l'échantillon à doser, dans ou sur un 5 milieu de culture stérile convenant aux microorganismes à évaluer.

L'isolement des souches s'effectue en trois étapes. Un délai d'incubation de cinq à sept jours est nécessaire entre chacune d'elle.

- une première phase d'isolement :

La population à étudier a subi des dilutions de dix en dix (de 10^{-1} à 10^{-7}).

10 A chaque dilution, 0.1mL de solution ont été prélevés, puis répandus à la surface d'un milieu gélosé solide en boîte de Pétri (l'étalement est assuré par une anse jetable stérile). Pour chaque dilution, deux milieux solides distincts sont 15ensemencés : GSC (Gélose de Sabouraud au Chloramphénicol) et PDA (Gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre). Ce dernier milieu est moins sélectif et plus favorable à la croissance bactérienne. Le milieu GSC est spécifique à la croissance mycélienne.

Les résultats ont été obtenus après cinq jours d'incubation à 25°C. Conformément au principe de la sélection par épuisement, plus le degré de dilution augmente, plus la proportion et la diversité des microorganismes qui se 20 développent sont faibles.

-une deuxième étape d'isolement (ou première purification) :

Les spores d'un thalle sélectionné sont remises en suspension, puis 25 subissent une dilution décimale (jusqu'à 10^{-6}). Le prélèvement des spores s'effectue à l'aide d'une pipette pasteur préalablement cassée (pour servir de grattoir) et stérilisée à la flamme. Le centre des moisissures est récupéré (spores + mycélium) puis remis en suspension dans de l'eau stérilisée. Sur dix échantillons étudiés, onze moisissures ont été ainsi isolées.

-une troisième d'isolement (purification de la souche) :

Après prélèvement des spores de la souche choisie, un ensemencement est 30 effectué, par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur cassée, le but étant

d'obtenir une seule colonie par boîte de Pétri (culture pure). Trois boîtes par moisissure isolée ont été ensemencées, chacune des boîtes contenant des milieux de cultures différents (milieux GSC, PDA et YCG, une autre gélose glucosée au chloramphénicol).

5 La culture obtenue étant pure, l'influence du milieu sur le développement mycélien est flagrante. L'incubation prend cinq à sept jours à 25°C.

En fin de troisième isolement, une observation au microscope à immersion est menée pour une pré-identification des souches isolées. On observe les appareils reproducteurs ceux-ci étant le premier critère de distinction des 10 espèces dans la classification.

On a ensuite réalisé une ultime étape d'isolement : l'ensemencement de slants.

Du milieu de culture est coulé dans des tubes à essai (9mL de milieu par tube). Chaque tube est fermé à l'aide de coton afin de protéger l'atmosphère 15 interne de toute contamination microbienne externe sans pour autant supprimer les flux d'oxygène. Le tout est stérilisé à l'autoclave 15 minutes à 120°C. A cette température, le milieu de culture est liquide. A la sortie de l'autoclave, les tubes sont inclinés de façon à ce que la gélose remonte au 2/3. En moins d'une heure, le milieu se solidifie. Six slants ont été réalisés par moisissure :

- 20 • un slant est mis en réserve et conservé à froid,
- un part en identification dans un laboratoire extérieur spécialisé afin de connaître avec précision l'espèce isolée,
- les quatre autres sont destinés à être remis en suspension et transvasés dans des tubes cryogéniques, forme sous laquelle la souche est intégrée à la bibliothèque.

25 Onze souches ont été purifiées. L'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette pasteur cassée. Les spores, prélevées par grattage dans les boîtes de Pétri en troisième phase d'isolement, sont mises en suspension dans le peu d'eau présent dans le fond des tubes (condensation due au refroidissement du milieu). L'étalement est alors facile et s'effectue par strie en descendant.

On effectue ensuite une étape de conservation et mise en souchotèque.

Une fois la semaine d'incubation passée, les spores et le mycélium sont récupérés. Pour finir, un contrôle de pureté et de propreté est effectué afin de s'assurer de l'absence de contaminants. Des essais de production sont lancés
5 avant l'entrée définitive de la souche dans la gamme commerciale. Si les essais sont concluants, la souche est définitivement intégrée à la bibliothèque : une cinquantaine de tubes cryogéniques sont préparés et rangés, ils servent de réserve pour le lancement de futures productions industrielles.

La préparation de cultures pures réclame non seulement l'isolement d'un
10 microorganisme donné à partir d'une population naturelle, mais aussi le maintien de ce microorganisme dans une atmosphère isolée.

Les microorganismes se cultivent dans des volumes et récipients de petites tailles (tube à essais, fiole d'Erlenmeyer ou boîte de Pétri). Ces récipients doivent être stérilisés avant l'inoculation (UV, rayon, chaleur sèche ou humide) et
15 ensuite protégés contre la contamination externe.

Le milieu PDA est moins sélectif que le milieu GSC et moins adapté à la croissance des moisissures, les colonies de bactéries et de levures y proliféreront plus facilement.

Des onze moisissures isolées, dix l'ont été après culture sur milieu GSC et
20 une après culture sur milieu PDA.

Une différence aussi bien quantitative que qualitative sépare les effluents urbains des effluents industriels. D'une manière générale, les spécimens isolés à partir d'effluents urbains, n'apparaissent pas dans les autres stations ou alors en quantité moindre.

25 On présente maintenant les principaux résultats de biodégradation des boues par les micromycètes, obtenus sur station d'épuration de 5000 eq / hab.

L'activité des micromycètes a été mesurée en utilisant deux bassins de contact 8 (ou cuves de procédé) dotés des équipements appropriés d'aération, de régulation, d'agitation :

- une cuve de procédé 8 dans laquelle le mélange (ou cocktail) défini est injecté,
- une cuve de procédé 8 témoin dans laquelle aucun cocktail mycélien n'est injecté.

5 Les deux cuves sont soumises aux mêmes conditions de pH, température, aération. Le flux à traiter est exactement le même ; seule diffère la biomasse puisque que dans la cuve de procédé se situent les espèces mycéliennes sélectionnées. De nombreuses espèces, associations d'espèces mais aussi des paramètres essentiels tels que le temps de séjour, les paramètres physico-chimique, ont été testés.

10 Le temps de séjour a été également testé afin d'évaluer la croissance des flores exogènes et endogènes et de choisir l'optimal en matière de dégradation de la matière organique avec prise en compte du facteur économique (temps de séjour plus ou moins important impliquant des installations plus ou moins coûteuses). Parmi les paramètres physico-chimiques qui permettent d'accélérer les processus et donc de faciliter la bonne marche du procédé, l'inventeur a confirmé l'effet important de l'aération sur le développement du cocktail fongique dans un mode favorisant ses capacités dégradatives.

15 Différents essais ont été réalisés en batch et en mode continu sur cuves de procédé contenant des effluents chargés en boues dans chacune des cuves.

20 Pour un fonctionnement en mode batch, des échantillons sont prélevés au temps 0 afin de réaliser les bilans sur le volume et la quantité de la boue : à titre d'exemple et de manière non exhaustive, les concentrations M.E.S, M.V.S, M.S, M.V, M.M, mais aussi azote et phosphore, DCO ainsi que les flux traités sont quantifiées au fil des jours.... Des analyses biologiques ont été réalisées pour le titrage de la flore bactérienne. Après injection du cocktail dans la cuve procédé (aucune injection dans la cuve témoin), des analyses biologiques ont été réalisées pour le titrage des flores bactérienne et fongique. Le titrage informe précisément sur la population mycélienne effectivement présente.

Pour un fonctionnement en mode continu, l'essai se fait par exemple selon le protocole suivant :

- arrivée continue d'effluents chargés en matière dites « boues » dans chacune des cuves puis sortie en continu d'un volume déterminé pour maintenir le temps de séjour requis (avec prise en compte des flux entrée et sortie) ; vu les volumes de l'installation d'essai, le mode continu est mis en place à l'aide d'une alimentation journalière (étalée selon un créneau horaire) sur une période de quelques minutes par heure successivement à l'extraction journalière réalisée sur une période de quelques minutes par heure ;
 - 10 -prise d'un échantillon en amont de la cuve de procédé afin de réaliser les bilans sur le volume et la quantité de la boue effectivement apportée dans la cuve de digestion mycélienne : à titre d'exemple et de manière non exhaustive, M.E.S et M.V.S, puis M.S, M.V, M.M, mais aussi azote et phosphore, DCO... (avec analyses biologiques pour le titrage de la flore bactérienne) ;
 - 15 -mise en marche du bioréacteur avec production in situ des espèces sélectionnées ;
 - injection du cocktail en continu (selon les volumes l'injection du mélange mycélien peut être séquentielle) dans la cuve de procédé (aucune injection dans la cuve témoin) ;
 - 20 -analyses biologiques pour le titrage des flores bactérienne et fongique des prélèvements réalisés sur le bioréacteur ;
 - prise d'échantillon régulière dans le bac de sortie des boues traitées avec demande d'analyses globales tant chimiques que microbiologiques.
- Le comparatif est effectué entre l'entrée et la sortie mais aussi en parallèle en comparaison avec le témoin.

L'inventeur a constaté des dégradations de la matière organique de l'ordre de 20 à 40 % en moyenne, qui correspondent à une différence de quantité entrante dans le système et d'une quantité sortante du système. Les boues traitées par les micromycètes dans le bassin de contact présentent typiquement les concentrations suivantes.

| | Boues dans la cuve de procédé au temps 0, avant l'injection de micromycètes |
|-------|---|
| M.E.S | 7 à 25 notamment 7 à 12 g/L |
| M.V.S | 4 à 20 notamment 4 à 8 g/L |
| M.S | 7 à 22 notamment 7 à 10 g/L |
| M.M | 3 à 10 notamment 3 à 4 g/L |
| M.V | 4 à 18 notamment 4 à 7 g/L |

Au vu de l'ensemble de la description qui précède, l'invention présente plusieurs avantages notables.

5 L'on peut en effet sélectionner le type et la quantité de micromycètes à administrer aux boues afin de contrôler au mieux le traitement, notamment en fonction des paramètres de l'installation (conditions de milieu de l'épuration des eaux résiduaires et des boues résiduelles qui y sont issues, composition des boues, débit de l'installlation ...).

10 Le cycle de vie des micromycètes, organismes pluricellulaires, offre plusieurs différences significatives par rapport aux bactéries : croissance plus lente et différente de celle des bactéries, matériel enzymatique de dégradation de la matière organique plus complexe et orienté vers une plus grande variété de substrats.

15 La sélection d'espèces mycéliennes issues du milieu endogène associées, selon les cas, à d'autres espèces connues pour leur capacité dégradative, ainsi que la détermination des conditions physico-chimiques permettent d'assurer la stabilité, l'adaptabilité et l'expression de l'écosystème (mélange fongique complexe) nouvellement incorporé. Ainsi, ce procédé permet d'exploiter les 20 fonctions enzymatiques d'intérêt des écosystèmes exogènes (cocktails fongiques) mais aussi, selon les cas, endogènes (flore déjà présente au sein des boues).

On observe une dégradation plus poussée des boues de stations d'épuration par certains « cocktails » de micromycètes face au processus classique d'utilisation des bactéries et protozoaires constitutifs de la boue. La fraction de matière organique totalement oxydée est alors plus importante.

5 La consommation énergétique de ce nouveau procédé est considérablement réduite par rapport à l'art antérieur : les besoins en apport d'oxygène des micromycètes représentent environ le tiers de l'oxygène requis par une population bactérienne. De plus, les micromycètes vont utiliser toutes les formes d'apport d'oxygène disponible afin d'optimiser la dégradation de la
10 matière organique. Le procédé est ainsi qualifié comme peu énergétique.

Ce procédé permet également de maîtriser les rejets des agents pathogènes en les diminuant grâce aux propriétés « antibiotiques » apportées par la population mycéienne. Certaines espèces mycéliennes peuvent en outre être choisies pour leur effet bénéfique sur les plantes, avec des applications utiles pour
15 des boues destinées à l'épandage : on utilisera par exemple des souches connues pour leurs propriétés phytoprotectrices. De manière plus générale, les procédés décrits précédemment offrent une grande modularité et flexibilité en fonction des micromyètes choisis.

20 Ce procédé permet aussi de manière non limitative une amélioration de la drainabilité de la boue, une pré-hygiénisation de la boue, des modifications des ratios C/N, C/P....

On notera que la performance du traitement varie selon les conditions opératoires (sélection des paramètres permettant d'atteindre les performances optimales) mais aussi selon le type d'effluent donc de substrat à dégrader. De plus
25 un certain nombre de prétraitements possibles (appliqués sur le flux de manière partielle ou totale) permettent de majorer les performances significativement. Le stress des boues avant le traitement mycélien est possible via l'utilisation d'enzyme, catalyseurs thermophyles, acidification, ozone, chocs osmotiques, autres oxydants et réactifs d'oxydation. Ainsi des performances nettement

2836910

30

supérieures peuvent être atteintes dans des conditions spécifiques sur des effluents donnés.

REVENDICATIONS

1. Procédé de traitement de boues de station d'épuration à dominante urbaine,
5 caractérisé en ce qu'il comprend une étape de traitement des boues par des micromycètes.
2. Procédé selon la revendication 1 caractérisé en ce qu'il comprend, en parallèle du traitement des boues par les micromycètes, la culture en continu des micromycètes.
- 10 3. Procédé selon la revendication 1 ou 2 caractérisé en ce que le temps de traitement des boues par les micromycètes est compris entre 1 et 10 jours, typiquement entre 2 et 5 jours.
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3 caractérisé en ce que le traitement par les micromycètes est réalisé à pH de l'ordre de 5.5 à 9,
15 température entre 10 et 30°C, agitation lente, oxygénéation de l'ordre de 1 à 4 mg/L d'oxygène dissous.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 caractérisé en ce que l'on met en contact avec les boues une seule souche ou plusieurs souches de micromycètes différentes.
- 20 6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que les micromycètes sont choisis parmi les genres *PENICILLIUM*, *TRICHODERMA*, *FUSARIUM*, *PHOMA*, *MUCOR*, *GALACTOMYCES*, *ASPERGILLUS*, *BOTRYTIS*, *GEOMYCES* et leurs mélanges.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 caractérisé en ce que
25 les micromycètes sont choisis parmi : *PENICILLIUM roqueforti*, *PENICILLIUM camembertii*, *PENICILLIUM chrysogenum* (*notatum*, *meleagrinum*, *flavidomarginatum*, *rubens*, *chlorophaeum*, *camerunense*, *aromaticum*, *harmonense*), *PENICILLIUM atramentosum*, *TRICHODERMA viride*, *TRICHODERMA Koningii*, *TRICHODERMA reesei*, *MUCOR hiemalis*, *MUCOR mucedo*, *MUCOR racemosus*, *MUCOR circinelloïdes*,

- MUCOR fuscus, MUCOR circinelloides, MUCOR racemosus, MUCOR plumbeus, GALACTOMYCES geotricum, ASPERGILLUS phoenicis, ASPERGILLUS niger, ASPERGILLUS ficuum, FUSARIUM equisetii, GEOTRICUM candidum, PHOMA glomerata, BOTRYTIS Cinerea, 5 GEOMYCES pannorum et leurs mélanges.
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisé en ce que la culture des micromycètes est aérobie.
 9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 caractérisé en ce que les boues sont traitées en continu.
 10. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 caractérisé en ce que les micromycètes sont injectés à un débit de l'ordre de 0.01 à 10%, typiquement de l'ordre de 2 à 5%, du volume de boues à traiter par jour.
 11. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8 caractérisé en ce que les boues sont traitées en discontinu.
 12. Procédé selon la revendication 11 caractérisé en ce que les micromycètes sont injectés à un débit de l'ordre de 0.01 à 15%, typiquement de l'ordre de 2 à 10%, du volume de boues à traiter par jour
 13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12 caractérisé en ce que les micromycètes sont au moins en partie endogènes, extraits des boues 20 non encore traitées par les micromycètes.
 14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 caractérisé en ce que la quantité de matière sèche des boues traitées par les micromycètes est réduite de l'ordre de 10 à 50%, typiquement de l'ordre de 20%, par rapport à celle des boues non traitées.
 25. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 caractérisé en ce qu'il comprend une étape de filtration membranaire des boues traitées par les micromycètes.
 16. Procédé de traitement des eaux dans une station d'épuration à dominante urbaine, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :

- traitement physique et/ou biologique des eaux usées, conduisant à la production de boues acheminées dans au moins une cuve de premier traitement (3),
 - le cas échéant activation des boues de ladite cuve (3),
 - le cas échéant clarification des boues activées,
 - traitement biologique par des micromycètes, d'au moins une partie des boues le cas échéant activées, dans au moins un bassin de contact biologique (8) situé à l'aval de la cuve de premier traitement (3), en mettant en oeuvre un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 14,
- 10
17. Procédé de traitement des eaux dans une station d'épuration à dominante urbaine, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes successives suivantes :
- traitement physique et/ou biologique des eaux usées, conduisant à la production de boues acheminées dans au moins une cuve de traitement mixte (18),
 - le cas échéant activation des boues de ladite cuve (18),
 - traitement biologique par des micromycètes et à l'aide d'un système de filtration membranaire (19), d'au moins une partie des boues le cas échéant activées, dans la cuve de traitement mixte (18), en mettant en oeuvre un procédé selon la revendication 15,
- 15
- 20
18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 17 caractérisé en ce qu'il comprend une étape de traitement des boues par au moins un agent oxydant injecté en ligne ou dans une cuve de prétraitement.
19. Procédé selon la revendication 18 caractérisé en ce que le traitement oxydant précède le traitement biologique par des micromycètes.
- 25
20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 18 ou 19 caractérisé en ce que le traitement oxydant a une durée inférieure à trois heures, de préférence de l'ordre de 30 minutes.
21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 18 à 20 caractérisé en ce que l'agent oxydant comprend H₂O₂ et un sel ferreux ou ferrique.
- 30

22. Procédé selon la revendication 21 caractérisé en ce que l'agent oxydant est le réactif de Fenton.
23. Procédé selon l'une quelconque des revendications 18 à 22 caractérisé en ce que l'agent oxydant comprend 0.001 à 0.1 g H₂O₂/gMES (MES des boues initiale avant traitement par les micromycètes) et 0.0001 à 0.01 g FeSO₄/gMES (MES initiale), de préférence 0.01 g H₂O₂/gMES associé à 0.001 g FeSO₄ / g MES.
24. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 23 caractérisé en ce qu'il comprend une étape de traitement des boues par au moins un antibiotique.
25. Procédé selon la revendication 24 caractérisé en ce que l'antibiotique est additionné aux boues avant ou en même temps que les micromycètes.
26. Installation de traitement d'effluents de station d'épuration à dominante urbaine, destinée à mettre en œuvre un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 14, 16, caractérisée en ce qu'elle comprend :
- une cuve de premier traitement comportant des boues d'épuration (3),
 - en aval de la cuve de premier traitement, au moins un bassin de contact biologique (8) destiné à la dégradation d'au moins une partie des boues par les micromycètes,
 - en amont du bassin de contact biologique, un bioréacteur (9) de culture en continu de micromycètes.
27. Installation de traitement d'effluents de station d'épuration à dominante urbaine, destinée à mettre en œuvre un procédé selon la revendication 15 caractérisée en ce qu'elle comprend :
- une cuve de traitement mixte (18) comportant des boues d'épuration à traiter, destinée à la dégradation d'au moins une partie des boues par les micromycètes, la cuve de traitement mixte (18) comprenant des moyens de filtration membranaire (19,31),

- en parallèle de la cuve de traitement mixte, un bioréacteur (28) de culture en continu de micromycètes,

28. Installation selon la revendication 26 ou 27, caractérisée en ce que le bio réacteur comprend :

- 5 - des moyens d'arrivée de nutriments et d'un inoculum à cultiver,
- des moyens de répartition homogène des micromycètes dans le bioréacteur,
- des moyens de transfert (10) de micromycètes cultivés vers le bassin de contact (8) ou la cuve de traitement mixte (18).
- 10 - une filtration de l'air circulant dans le réacteur

29. Installation selon la revendication 26 caractérisée en ce que le bassin de contact comprend des moyens d'arrivée (10) des micromycètes, des moyens d'arrivée des boues (7,7a), des moyens d'agitation (14), des moyens d'aération (13), des moyens d'évacuation des boues traitées (17,17a), des moyens de régulation des débits d'arrivée et de sortie des boues et des micromycètes, du pH et de la température.

15 30. Installation selon l'une quelconque des revendications 26 à 29 caractérisée en ce qu'elle comprend une cuve d'agent oxydant ou des moyens d'injection en ligne de l'agent oxydant en amont du bassin de contact.

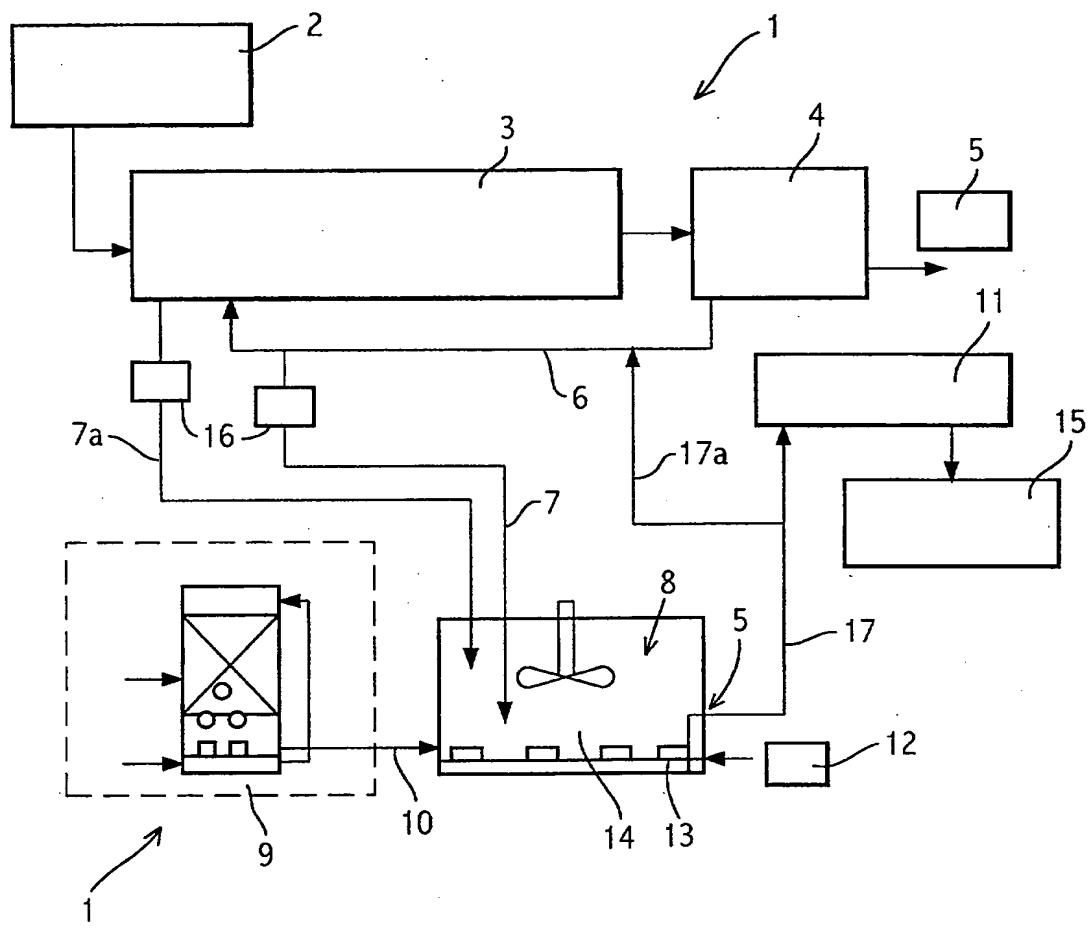


FIG.1

2 / 2

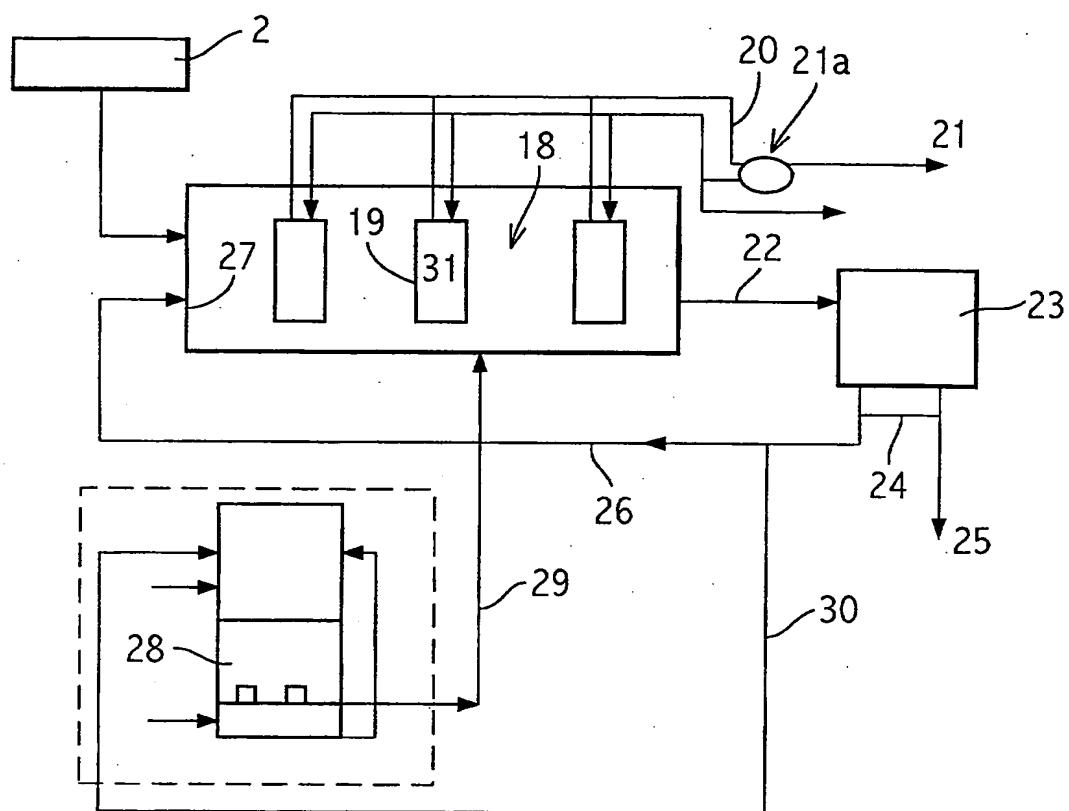


FIG.2



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

2836910

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 618972
FR 0205277

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendication(s) concernée(s) | Classement attribué à l'invention par l'INPI |
|---------------------------------------|---|---|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| X | GB 335 682 A (CHESTER GREENBALGH WIGLEY; CLYDE POTTS) 2 octobre 1930 (1930-10-02) * page 1, ligne 15 - ligne 24 * | 1,3-6,8, 9,11,15 | C02F3/34 C02F11/02 |
| Y | * , phrase 66 - phrase 70 * * page 2, ligne 19 - page 3, ligne 42 * | 2,5,6, 15-19, 21,22,27 | |
| Y | EP 0 607 096 A (ARM BIOTECHNOLOGY) 20 juillet 1994 (1994-07-20) * abrégé * * colonne 1, ligne 38 - ligne 47 * * colonne 4, ligne 42 * | 2,5,6,16 | |
| Y | US 4 293 333 A (DROBOT WALTER) 6 octobre 1981 (1981-10-06) * abrégé * * colonne 4, ligne 5 - ligne 8 * * colonne 6, ligne 20 - ligne 30 * | 2,16 | |
| X | MOLLA ET AL.: "In-vitro compatibility evaluation of fungal mixed culture for bioconversion of domestic wastewater sludge" WORLD JOURNAL OF MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY., vol. 17, no. 9, décembre 2001 (2001-12), pages 849-856, XP008011622 RAPID COMMUNICATIONS OF OXFORD, OXFORD., GB ISSN: 0959-3993 * abrégé * | 1,5-7 | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.Cl.7) C02F |
| 1 | Date d'achèvement de la recherche 12 décembre 2002 | Examinateur Gonzalez Arias, M | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS | | T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant | |
| EPO FORM 1503 12.59 (PO4C14) | | | |



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

2836910

N° d'enregistrement
nationalFA 618972
FR 0205277établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendication(s) concernée(s) | Classement attribué à l'invention par l'INPI | | |
|---|--|-------------------------------|--|--|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | | | |
| X | US 5 698 028 A (HIGA TERUO) 16 décembre 1997 (1997-12-16) * colonne 2, ligne 18 - ligne 30 * * colonne 3, ligne 40 - ligne 56; exemples 1,9 * | 1,5-7 | | | |
| A | VACHON P, ET AL.: "Chemical and Biological Leaching of Aluminum from Red Mud" ENVIRONMENTAL SCIENCE AND TECHNOLOGY., vol. 28, no. 1, 1994, pages 26-30, XP002224488 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, PA., US ISSN: 0013-936X * abrégé * | 1,5-7 | | | |
| Y | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1998, no. 10, 31 août 1998 (1998-08-31) & JP 10 128371 A (DAIDOU HITOSHI; TAJIMA NORIYUKI; NIPPON STEEL CORP; HITACHI METALS LTD;), 19 mai 1998 (1998-05-19) * abrégé * | 15,17,27 | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.Cl.) | | |
| Y | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 011, no. 075 (C-408), 6 mars 1987 (1987-03-06) & JP 61 230796 A (KURITA WATER IND LTD), 15 octobre 1986 (1986-10-15) * abrégé * | 15,17,27 | | | |
| Y | US 5 955 350 A (KAYSER KEVIN ET AL) 21 septembre 1999 (1999-09-21) * abrégé * * colonne 3, ligne 42 - colonne 56 * | 18,19, 21,22 | | | |
| 1 | | -/- | | | |
| EPO FORM 1503 12/99 (FD/C14) | Date d'achèvement de la recherche | Examinateur | | | |
| | 12 décembre 2002 | Gonzalez Arias, M | | | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS | | | | | |
| X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire | | | | | |
| T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant | | | | | |



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications déposées avant le commencement de la recherche

2836910

N° d'enregistrement national

FA 618972
FR 0205277

| DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS | | Revendication(s) concernée(s) | Classement attribué à l'invention par l'INPI |
|---|--|---|--|
| Catégorie | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes | | |
| A | PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1999, no. 03, 31 mars 1999 (1999-03-31) & JP 10 323700 A (KAWASAKI KASEI CHEM LTD), 8 décembre 1998 (1998-12-08) * abrégé * | 18 | |
| DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.Cl.7) | | | |
| 1 | Date d'achèvement de la recherche 12 décembre 2002 | Examinateur Gonzalez Arias, M | |
| CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire | | T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant | |

2836910

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0205277 FA 618972**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 12-12-2002.
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

| Document brevet cité au rapport de recherche | | Date de publication | Membre(s) de la famille de brevet(s) | | Date de publication |
|--|---|---------------------|--|--|--|
| GB 335682 | A | 02-10-1930 | AUCUN | | |
| EP 0607096 | A | 20-07-1994 | FR 2700323 A1 DE 69419325 D1 EP 0607096 A1 ES 2136184 T3 | | 13-07-1994 12-08-1999 20-07-1994 16-11-1999 |
| US 4293333 | A | 06-10-1981 | AU 542558 B2 AU 6567280 A CA 1159781 A1 DE 3101267 A1 FR 2475522 A1 GB 2068927 A ,B IT 1142299 B JP 56113397 A | | 28-02-1985 17-06-1982 03-01-1984 10-12-1981 14-08-1981 19-08-1981 08-10-1986 07-09-1981 |
| US 5698028 | A | 16-12-1997 | JP 7010640 A AT 184868 T AU 674075 B2 AU 6591094 A CA 2126722 A1 DE 69420780 D1 DE 69420780 T2 EP 0631998 A1 NZ 260827 A US 5521131 A US 5683665 A US 5683664 A US 5683951 A US 5602065 A | | 13-01-1995 15-10-1999 05-12-1996 05-01-1995 26-12-1994 28-10-1999 18-05-2000 04-01-1995 24-03-1997 28-05-1996 04-11-1997 04-11-1997 04-11-1997 11-02-1997 |
| JP 10128371 | A | 19-05-1998 | AUCUN | | |
| JP 61230796 | A | 15-10-1986 | JP 6032830 B | | 02-05-1994 |
| US 5955350 | A | 21-09-1999 | US 5610065 A EP 0959992 A1 JP 2000516534 T WO 9835768 A1 CA 2171382 A1 WO 9825857 A1 | | 11-03-1997 01-12-1999 12-12-2000 20-08-1998 11-09-1996 18-06-1998 |
| JP 10323700 | A | 08-12-1998 | AUCUN | | |